

Über N-(α -Aminoacyl)-sulfonamide, I. Mitt.

Von

K. Hohenlohe-Oehringen und L. Call

(Eingegangen am 17. Januar 1968)

Es wird über die Synthese von N-Phenylalanyl-p-toluolsulfonamid und N-Phenylalanyl-methansulfonamid berichtet, die durch Reaktion verschiedener carboxyl-aktivierter Derivate des rac. N-*t*-Butoxycarbonyl-phenylalanins mit p-Toluolsulfonamid-natrium und Methansulfonamid-natrium durchgeführt wird.

Carboxyl activated derivatives of rac. N-*t*-butoxycarbonyl phenylalanine react with Na p-toluenesulfonamide and Na methanesulfonamide to give the corresponding N-phenylalanyl sulfonamides.

Unter Ausnützung der Kenntnis der Biosynthese der „vasopressorischen Amine“ Adrenalin und Noradrenalin — die nach heutiger Ansicht von Tyrosin ausgehend die Stufen 3,4-Dihydroxy-phenylalanin („Dopa“) und β -(3,4-Dihydroxyphenyl)-äthylamin („Dopamin“) durchläuft — hat man in letzter Zeit versucht, eine Herabsetzung des pathologisch zu hohen Blutdruckes dadurch zu erzielen, daß die im Zuge der Biosynthese der vasopressorischen Amine auftretenden Substrate, insbesondere die Aminosäuren Tyrosin und Dopa, an ihren enzymatischen Reaktionsorten durch Verbindungen verdrängt werden, die in ihrer Funktionalität, vor allem ihrem zwitterionischen Charakter, den natürlichen Substraten nahe stehen, jedoch nicht an ihrer Stelle in den Syntheseweg eingehen können.

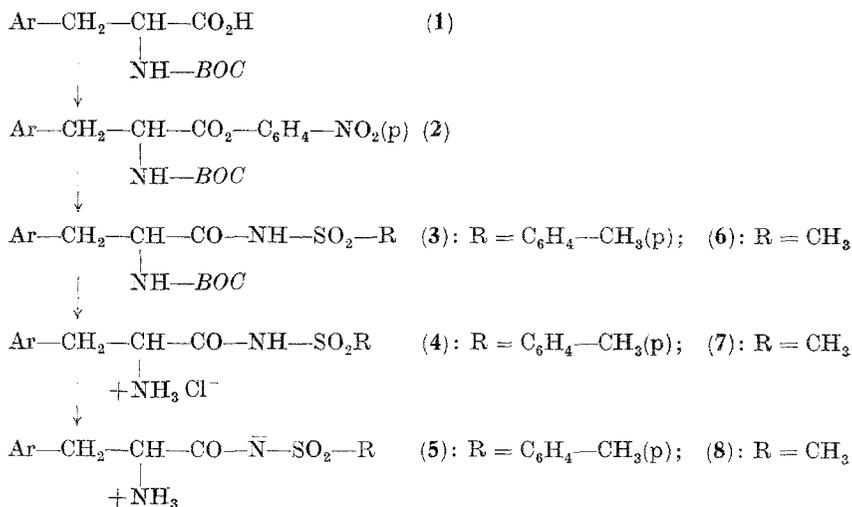
Beispiele für die Anwendung dieses Prinzips der „Substratverdrängung“ bzw. „Enzymblockade“ sind das von Pfister¹ synthetisierte und von Westermann² und Dengler³ als hypotensiv wirksam erkannte 3,4-

¹ G. A. Stein, H. A. Bronner und K. Pfister, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 700 (1955).

² E. Westermann, H. Balzer und J. Knell, Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. **234**, 194 (1958).

³ H. Dengler und G. Reichel, Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. **234**, 275 (1958).

Formelübersicht 1



DL-Phenylalanin-natrium wurde mit *t*-Butoxycarbonylazid^{7, 8} in Gegenwart von Triäthylamin zu N-*t*-Butoxycarbonyl-phenylalanin⁶ (1) umgesetzt⁹ (Vers. 1), das mit p-Nitrophenol in Gegenwart von N,N'-Dicyclohexyl-carbodiimid zum p-Nitrophenylester (2) verestert wurde¹⁰ (Vers. 2). Der Ester 2 wurde mit p-Toluolsulfonamid-Na und Methansulfonamid-Na in DMF zu den N-(N'-*t*-Butoxycarbonyl-phenylalanyl)-sulfonamiden 3 und 6 umgesetzt (Vers. 3 und 6). Anschließend wurde die Amino-Schutzgruppe durch HCl in Eisessig bei Raumtemperatur abgespalten (Vers. 4 und 7). Die erhaltenen Hydrochloride 4 und 7 wurden durch Lösen in NaOH und Ausfällen mit Essigsäure bzw. durch Neutralisation mit NaHCO₃ und Extraktion mit DMF in die Ampholyte 5 und 8 übergeführt (Vers. 5 und 8).

Der pK_A-Wert der erwartungsgemäß stark sauren Hydrochloride 4 und 7 wurde durch Messung des pH-Wertes einer halbneutralisierten Lösung mit 2,3 bestimmt. Für Phenylalanin-hydrochlorid wird ein pK_A-Wert von 2,16 angegeben¹¹. In gleicher Weise wurden die pK_A-

⁷ L. A. Carpino, J. Amer. chem. Soc. **79**, 98 und 4427 (1957).

⁸ L. A. Carpino, C. A. Giza und B. A. Carpino, J. Amer. chem. Soc. **81**, 955 (1959).

⁹ R. Schwyzer, P. Sieber und H. Kappeler, Helv. chim. acta **42**, 2622 (1959) beschrieben die Darstellung von L-N-*t*-Butoxycarbonylphenylalanin⁶ in 73% Ausb., wobei MgO als Säurebinder verwendet wurde. Bei rac. Phenylalanin konnten wir nach dieser Methode nur 42% Ausb. erzielen, im oben angegebenen Homogensystem jedoch 77% d. Th.

¹⁰ M. Bodanszky und V. du Vigneaud, J. Amer. chem. Soc. **81**, 5688 (1959).

¹¹ C. V. Nevenzel, W. E. Shelberg und C. Niemann, J. Amer. chem. Soc. **71**, 3024 (1949).

Werte der Ampholyte **5** und **8** mit 8,8 bestimmt, während für Phenylalanin der Wert von 9,12 angegeben wird¹¹ (Vers. 9).

Beim Erhitzen gehen die Hydrochloride **4** und **8** noch vor Erreichen ihres eigenen, nicht bestimmbareren Schmelzpunktes unter HCl-Abgabe in die Ampholyte **5** und **8** über, deren Schmelzpunkt und IR-Spektrum sie nach dem Erhitzen zeigen. Das Hydrochlorid **4** läßt sich durch bloßes Digerieren mit Wasser in den in Wasser fast unlöslichen Ampholyt **5** überführen (Vers. 5a).

Daß es berechtigt ist, die Ampholyte **5** und **8** in der zwitterionischen Form aufzuschreiben, beweisen vor allem die IR-Spektren von **5** und **8**, die typische Aminosäure-Spektren sind. Gegenüber den Spektren der Hydrochloride **4** und **7** ist eine starke bathochrome Verschiebung der Carbonylbande und auch der Sulfonylbanden zu beobachten. Die IR-Spektren der Ampholyte ähneln weiters sehr denen der ähnlich strukturierten, von Klötzer¹² beschriebenen, nur betainartig formulierbaren Verbindungen N-1-Trimethylammoniumacetyl-sulfanilamid-betain und N-Trimethylammoniumacetyl-p-nitrobenzolsulfonamid-betain, während die aus diesen Verbindungen hergestellten Chloride ähnliche Spektren zeigen wie die Hydrochloride **4** und **7**.

Gegen saure Hydrolyse (vierstündiges Erhitzen mit verd. HCl) sind die Ampholyte **5** und **8** stabil, sie zeigen auch keine Ninhydrin-Reaktion. Der Ampholyt **8** geht beim Erhitzen über den Schmelzpunkt in das von Erlenmeyer¹³ erstmals dargestellte 3,6-Dibenzyl-2,5-dioxo-piperazin über, welches auch bei Versuchen, die Amino-Schutzgruppe von **6** durch Pyrolyse bei 160° zu eliminieren, erhalten wurde (Vers. 10).

Außer dem p-Nitrophenylester **2** wurden verschiedene carboxyl-aktivierte Derivate¹⁴ von **1** mit p-Toluolsulfonamid-Na unter den üblichen Bedingungen zu **3** umgesetzt (Tab. 1).

Die höchsten Ausbeuten an **3** konnten bei Verwendung des 2,4-Dinitrophenylesters **12** erzielt werden. Hierbei wurde **3** jedoch wegen der schwierigen Abtrennbarkeit des 2,4-Dinitrophenols nicht in kristallisierter Form isoliert, sondern sofort durch Eliminierung der Amino-Schutzgruppe in **4** übergeführt. Den guten, mit dem 2,4-Dinitrophenylester **12** erzielten Ausbeuten stehen als Nachteile gegenüber, daß sich **12** — im Gegensatz zum gut kristallisierenden p-Nitrophenylester **2** — nur schwer zur Kristallisation bringen und reinigen läßt und zudem nur begrenzt lagerfähig ist.

Einige der carboxyl-aktivierten Derivate von **1** wurden auch mit Methansulfonamid-Na umgesetzt, worüber Tab. 2 Aufschluß gibt.

¹² W. Klötzer, Mh. Chem. **67**, 313 (1956).

¹³ E. Erlenmeyer und A. Lipp, Ann. Chem. **219**, 206 (1883).

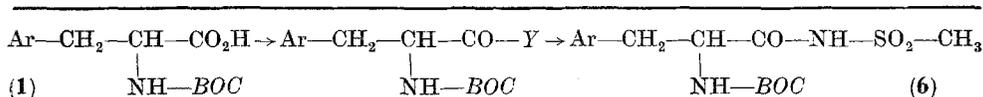
¹⁴ Th. Wieland und H. Determann, Angew. Chem. **75**, 539 (1963).

Tabelle 1

$\begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{NH}-\text{BOC} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CO}-\text{Y} \\ \\ \text{NH}-\text{BOC} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3(\text{p}) \\ \\ \text{NH}-\text{BOC} \end{array} \quad (3)$		Reaktion zu 3	
Nr.	Bildung aus 1	Vers.	Ausb., %
	Vers.	Ausb., %	
—Y			
1	—	—	10 ^a
—OH + DCCI ^e	12	97	13
—OCH ₃	14	67	15
9	16	76	17
—O—CH ₂ —CN ¹⁵	2	75	3
10	18	88	19 ^a
—O—CH ₂ —CO ₂ C ₂ H ₅ ¹⁵	20	44 ^a	19 ^b
11	—	—	21
—O—C ₆ H ₄ —NO ₂ (p) ¹⁶	—	—	22
2			
—O—C ₆ H ₃ —(NO ₂) ₂ (2,4)			
12			
—O—C ₆ H ₅			
14			
—OH + CDI ¹⁶ , e			

^a Bei dieser Reaktion wurde außerdem N-(N-*t*-Butoxycarbonyl-phenyl-alanyl)-N,N'-dicyclohexyl-harnstoff (13) isoliert.
^b Bei dieser Umsetzung wurden zwei Moläquivalente p-Tololsulfonamid-Na eingesetzt.
^c 2,4-Dinitrophenol kann von 3 nicht durch fraktionierte Kristallisation abgetrennt werden. Um 3 rein zu kristallisieren, wurde 2,4-Dinitrophenol durch Ausschütteln mit Natriumacetat-Lösung entfernt. Da jedoch auch 3 darin etwas löslich ist, war die Ausb. an 3 niedrig.
^d Auf eine Isolierung von 3 in kristalliner Form wurde verzichtet, die Reaktion wurde bis zum Hydrochlorid 4 weitergeführt und dieses isoliert. Die angegebene Ausb. an 3 wurde rechnerisch ermittelt.
^e DCCI = Dicyclohexylcarbodiimid, CDI = Carbonyl-diimidazol.
¹⁵ R. Schwyzer, M. Feurer, B. Iselin und H. Kögel, Helv. chim. acta 38, 80 (1955).
¹⁶ H. A. Staab, Ann. Chem. 609, 75 (1957).

Tabelle 2



—Y	Nr.	Bildung Vers.	aus 1 Ausb., %	Reaktion zu 6 Vers.	Ausb., %
—O—CH ₂ —CN ¹⁵	10	14	67	23	64
—O—C ₆ H ₄ —NO ₂ (p) ⁹	2	2	75	6	70
—O—C ₆ H ₃ —(NO ₂) ₂ (2,4)	12	18	88	24	89 ^a
—OH + CDI ^{16, b}	—	—	25	25	62 ^a

^a Bei dieser Reaktion wurde auf eine Isolierung von **6** in kristalliner Form verzichtet, die Reaktion wurde bis zum Hydrochlorid **7** weitergeführt. Die angegebene Ausb. an **6** wurde rechnerisch ermittelt.

^b CDI = Carbonyl-diimidazol.

Ein Vergleich der Tab. 1 und 2 ergibt, daß die Kupplung carboxylaktivierter Derivate von **1** mit Sulfonamid-natriumsalzen in der Methansulfonamid-Reihe etwas höhere Ausbeuten ergibt. Auch hier liefert der 2,4-Dinitrophenylester die höchsten Ausbeuten.

Den Firmen Hoffmann-La Roche AG., Basel und Wien, danken wir für materielle Förderung. Herr Prof. Dr. H. Bretschneider hat diese Arbeit ermöglicht und gefördert, wofür wir ihm herzlich danken möchten. Die Mikroanalysen wurden unter Leitung von Herrn Dr. J. Zak am Institut für Physikalische Chemie der Universität Wien ausgeführt.

Experimenteller Teil

Versuch 1: rac. N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanin (**1**)⁶

17,0 g rac. Phenylalanin wurden unter Zugabe von 4,2 g in wenig Wasser gelöster NaOH in 100 ml 50proz. wäbr. Dioxan gelöst, ggf. filtriert, und nach Zugabe von 19,0 g *t*-Butoxycarbonyl-azid⁸ und 10,0 ml Triäthylamin unter mechanischem Rühren 12 Stdn. bei Raumtemp. belassen, wobei die Konsistenz der Lösung breiig wurde. Dann wurde unter Eiskühlung mit *n*-Citronensäure auf pH 3 angesäuert und dreimal unter Innen-eiskühlung mit je 100 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten, neutralgewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Essigesterphasen wurden im Vak. bei 40° eingengt, der farblose ölige Rückstand mit Äther—Petroläther (*PÄ*) zur Kristallisation gebracht und nach Köhlen im Eisbad filtriert. Es wurden 20,6 g **1** (77% d. Th.), Schmp. 140—144°, erhalten, die ohne weitere Reinigung eingesetzt wurden. Zur Analyse wurde aus Äther—*PÄ* umkristallisiert; Schmp. = 143—144° (Lit.⁶: 144,5—145°).

IR(KBr): 2,99 (m), 3,30 (m), 5,69 (s), 6,09 (s); (CHCl₃): 2,95 (w), 5,86 (s), 8,60 (s).

Versuch 2: N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanin-p-nitrophenyl-ester (2)

4,2 g p-Nitrophenol und 6,6 g **1** wurden unter leichtem Erwärmen in 150 ml trockenem Essigester gelöst, auf 0° gekühlt und nach Zugabe einer Lösung von 5,2 g Dicyclohexylcarbodiimid in 40 ml trockenem Essigester 3 Stdn. bei 0° stehengelassen. Nach Erwärmen auf Raumtemp. wurde filtriert, der Rückstand (ca. 5,2 g *N,N'*-Dicyclohexyl-harnstoff) mehrmals mit Essigester gewaschen und die vereinigten Essigesterphasen im Vak. bei 40° eingeeengt. Der kristalline Rückstand wurde mit 50 ml Äthanol aufgenommen, nach Kühlen im Eisbad filtriert und mit eiskaltem Äthanol nachgewaschen, bis das Filtrat farblos war. Es wurden 7,2 g **2** (75% d. Th.), Schmp. 110—115° (Zers.), erhalten, die ohne weitere Reinigung eingesetzt wurden. Zur Analyse wurde aus Äthanol umkristallisiert, Schmp. = 117—120° (Zers.).

IR (CHCl₃): 2,88 (w), 5,62 (m), 5,82 (s), 6,03 (s).

C₂₀H₂₂N₂O₆. Ber. N 7,25. Gef. N 7,16.

Versuch 3: N-(N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanyl)-p-toluolsulfonamid (3)

7,1 g **2** wurden in 40 ml absol. DMF gelöst und nach Zugabe von 7,8 g p-Toluolsulfonamid-natrium 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Dann wurde auf Eis gegossen, unter Eiskühlung mit 1*n*-Citronensäure auf pH 3 angesäuert, unter Innen-eiskühlung dreimal mit je 50 ml Essigester extrahiert, die vereinigten Essigesterphasen gewaschen, bis die wäbr. Phase gelb gefärbt ist, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vak. bei 40° eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde aus Äther—P \bar{A} kristallisiert und nach Kühlen im Eisbad filtriert. Es wurden 4,9 g **3** (64% d. Th.), Schmp. 149—151° erhalten. Zur Analyse wurde aus Äther—P \bar{A} umkristallisiert, Schmp. = 152°.

IR (KBr): 3,01 (m), 5,78 (s), 5,98 (vs), 7,48 (s), 8,50 (s).

C₂₁H₂₁N₂O₅S. Ber. C 60,27, H 6,26, N 6,70, S 7,66.
Gef. C 60,50, H 6,45, N 6,71, S 7,54.

Versuch 4: N-Phenylalanyl-p-toluolsulfonamid-hydrochlorid (4)

5,6 g **3** wurden unter leichtem Erwärmen in 20 ml Eisessig gelöst, nach dem Erkalten auf Raumtemp. 980 mg HCl in Eisessig zugegeben und 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Die eingetretene Kristallisation wurde durch vorsichtige Zugabe von absol. Äther vermehrt, filtriert und mit absol. Äther gewaschen, bis kein Geruch nach Essigsäure mehr feststellbar war. Es wurden 4,0 g **4** (86% d. Th.), Schmp. 230—232° (Umwandlung ab 200°, Zers.) erhalten. Zur Analyse wurde aus Eisessig—Äther umgefällt, Schmp. = 233—234° (Zers.).

IR (KBr): 3,09 (m), 3,4—3,6 (s), 5,78 (s), 7,45 (s), 8,56 (s).

C₁₆H₁₉ClN₂O₃S. Ber. C 54,16, H 5,39, N 7,89, S 9,03, Cl 9,99.
Gef. C 53,81, H 5,51, N 7,91, S 8,96, Cl 10,31.

Versuch 5: N-Phenylalanyl-p-toluolsulfonamid (5)

3,0 g **4** wurden unter leichtem Erwärmen in 50 ml 1*n*-NaOH gelöst und unter Eiskühlung mit Essigsäure angesäuert. Nach Kühlen im Eisbad wurde filtriert und mit Wasser, Äthanol und zuletzt Äther gewaschen. Es wurden 2,4 g **5** (89% d. Th.), Schmp. 239—242° (Umwandlung bei 200°, Zers.), er-

halten. Zur Analyse wurde aus *DMF*-Äther umgefällt, Schmp. 232—236° (Zers.).

IR (KBr): 2,90 (w), 3,15—3,50 (m), 6,05 (s), 7,52 (s), 8,75 (s).

$C_{16}H_{18}N_2O_3S$. Ber. C 60,33, H 5,70, N 8,80, S 10,07, O 15,07.
Gef. C 59,90, H 5,75, N 8,86, S 9,85, O 15,16.

a) 150 mg **4** wurden in einer Reibschale in 10 ml Wasser aufgeschlämmt und gut verrieben. Dann wurde filtriert, wodurch 100 mg **5** erhalten wurden, die mit authent. Material in Schmp. und IR-Spektrum übereinstimmen.

Rücküberführung von **5** in **4**: 110 mg **5** wurden in 5 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe von 30 mg HCl in Eisessig mit Äther versetzt. Nach Kühlen wurde filtriert und mit Äther gewaschen, wodurch 100 mg **4** (82% d. Th.) erhalten wurden, die mit authent. **4** in Schmelzverhalten und IR-Spektrum übereinstimmen.

Versuch 6: N-(N'-t-Butoxycarbonyl-phenylalanyl)-methansulfonamid (6)

5,8 g **2** wurden in 40 ml absol. *DMF* gelöst und nach Zugabe von 3,6 g Methansulfonamid-natrium 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Aufarbeitung wie in Vers. 3 wurden 3,6 g **6** (70% d. Th.), Schmp. 150—155° (Zers.), erhalten. Zur Analyse wurde aus Essigester—Äther umkristallisiert, Schmp. 156° (Zers.).

IR (KBr): 2,99 (w), 3,09 (s), 5,82 (s), 5,89 (s), 7,41 (s), 8,54.

$C_{15}H_{22}N_2O_5S$. Ber. C 52,62, H 6,48, N 8,18, S 9,37.
Gef. C 52,65, H 6,29, N 8,23, S 9,69.

Versuch 7: N-Phenylalanyl-methansulfonamid-hydrochlorid (7)

2,04 g **6** wurden in 20 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe von 450 mg HCl in Eisessig 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Die Kristallisation wurde durch Zugabe von Äther vermehrt, filtriert und mit Äther gewaschen. Es wurden 1,38 g **7** (88% d. Th.), Schmp. 195—205° (Zers.), erhalten. Zur Analyse wurde aus Äthanol—Äther umgefällt. Schmp. 203—207° (Zers.).

IR (KBr): 3,10 (m), 3,3—3,6 (s), 5,62 (s), 7,51 (vs), 8,68 (vs).

$C_{10}H_{15}ClN_2O_5S$. Ber. C 43,08, H 5,43, N 10,05, S 11,50.
Gef. C 42,96, H 5,40, N 9,96, S 11,57.

Versuch 8: N-Phenylalanyl-methansulfonamid (8)

2,45 g **7** wurden in 30 ml Wasser gelöst und nach Zugabe von 810 mg $NaHCO_3$ im Vak. bei 60° zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde mit wenig absol. *DMF* digeriert, filtriert und das Filtrat mit absol. Äther versetzt. Nach Anreiben kristallisierten 1,86 g **8** (86% d. Th.). Zur Analyse wurde aus *DMF*-Äther umgefällt, Schmp. 206—209° (Zers.).

IR (KBr): 2,90 (w), 3,15—3,7 (s), 6,10—6,26 (s), 8,0 (s), 8,95

$C_{10}H_{14}N_2O_3S$. Ber. C 49,57, H 5,82, N 11,57, S 13,22.
Gef. C 49,36, H 5,62, N 11,30, S 13,07.

Versuch 9: Messung von pK_A -Werten

Die pK_A -Werte der Verbindungen **4**, **5**, **7** und **8** wurden durch Messung des pH-Wertes einer halbneutralisierten Lösung gemessen. Da der Ampholyt (**5**)

in Wasser fast unlöslich ist, wurde hier 80proz. wäßriges *DMF* als Lösungsmittel verwendet. Zum Vergleich wurde 0,05*n*-HCl in 80proz.-wäßrigem *DMF* gemessen, wobei ein um 0,5 pH-Einheiten höherer Wert als in Wasser gefunden wurde, so daß dieser Betrag als Korrekturwert berücksichtigt wurde. Als innerer Standard wurden Phenylalaninhydrochlorid und Phenylalanin gemessen und mit der Literatur¹¹ übereinstimmende Werte gefunden. Es wurden je 1,0 mMol der zu messenden Verbindung genau eingewogen, 5,0 ml 0,1*n*-NaOH zugegeben und im Meßkolben auf 10,0 ml aufgefüllt. Der pH-Wert dieser Lösung wurde gemessen. Folgende Werte wurden erhalten:

Phenylalanin-hydrochlorid: 2,3.

4: 2,3 (unter Berücksichtigung der „*DMF*-Korrektur“).

7: 2,3.

5: 8,9 (unter Berücksichtigung der „*DMF*-Korrektur“).

8: 8,9.

Phenylalanin: 9,2.

Versuch 10: 3,6-Dibenzyl-2,5-dioxo-piperazin

a) durch *Pyrolyse* von **8**: 20 mg **8** wurden unter dem Heizmikroskop über den Schmp. erhitzt. Ab etwa 220° bildeten sich Nadeln aus, die bei 270° unter Zers. schmelzen. Nach Umkristallisieren aus Äthanol lag der Schmp. und Mischschmp. mit authent. Material bei 280°, die IR-Spektren waren ident.

b) durch *Pyrolyse* von **6**: 700 mg **6** wurden unter N₂ auf 160° erhitzt, wobei die Schmelze nach etwa 5 Min. wieder erstarrte. Nach dem Abkühlen wurde mit Wasser digeriert, wobei sich etwa die Hälfte löste. Der unlösliche Anteil (230 mg) wurde aus Alkohol umkristallisiert: Schmp. 279–280°. Mit authent. Material wurde keine Schmelzpunktsdepression und Identität des IR-Spektrums festgestellt.

Versuch 11: **3** aus **1** und *p*-Toluolsulfonamid mittels Dicyclohexylcarbodiimid

Zu einer auf 0° gekühlten Lösung von 1,06 g **1** und 700 mg *p*-Toluolsulfonamid in 30 ml trockenem Essigester wurde eine gekühlte Lösung von 830 mg *DCCI* in 10 ml trockenem Essigester gegeben und 3 Stdn. bei 0° stehengelassen. Dann wurde kalt filtriert, wodurch 400 mg N,N'-Dicyclohexyl-harnstoff (45% d. Th.) erhalten wurden. Nach 3stdg. Stehen bei Raumtemp. wurde das Filtrat nochmals filtriert, wodurch 300 mg **13** (vgl. Vers. 20) erhalten wurden. Das Filtrat wurde 3mal mit je 15 ml eiskalter 2*n*-NaOH extrahiert, die wäßrige Phase unter Eiskühlung mit 1*n*-Citronensäure auf pH 3 angesäuert und wie in Vers. 3 aufgearbeitet. Es wurden 150 mg **3** (10% d. Th.), Schmp. 105–145°, erhalten, deren IR-Spektrum mit dem von authent. **3** übereinstimmte. Das so erhaltene **3** konnte auch durch mehrmaliges Umkristallisieren nicht gereinigt werden.

Versuch 12: *N*-*t*-Butoxycarbonyl-phenylalanin-methylester (**9**)

780 mg **1** wurden in 20 ml absol. Äther gelöst und eine äther. über KOH getrocknete Lösung von CH₂N₂ bis zur bestehenbleibenden Gelbfärbung und Aufhören der Gasentwicklung zugegeben. Nach Abziehen des Lösungsmittels im Vak. bei 30° wurde der Rückstand mit Äther—*P* \bar{A} (1 : 9) aufgenommen und

filtriert. Es wurden 850 mg **9** (97% d. Th.), Schmp. 97—102°, erhalten. Zur Analyse wurde aus Äther—*P* \bar{A} umkristallisiert, Schmp. 100—102°.

IR (KBr): 2,89 (m), 5,72 (s), 5,83 (s).

$C_{15}H_{32}NO_4$. Ber. N 5,01. Gef. N 5,23.

Versuch 13: Versuchte Umsetzung von 9 mit p-Toluolsulfonamid-natrium

620 mg **9** wurden in 3 ml absol. *DMF* gelöst und nach Zugabe von 460 mg p-Toluolsulfonamid-natrium 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Dann wurde auf Eis gegossen, 2mal mit Essigester extrahiert und die vereinigten, neutralgewaschenen und getrockneten Essigesterphasen im Vak. bei 40° eingengt. Der ölige Rückstand wurde aus Äther—*P* \bar{A} kristallisiert, wodurch 570 mg **9**, Schmp. 80—90°, erhalten wurden, die nach Umkristallisieren aus Äther—*P* \bar{A} einen Schmp. von 95—100° zeigten und mit authent. **9** keine Schmelzpunktsdepression und identes IR-Spektrum ergaben. Aus der unter Eiskühlung mit 1*n*-Citronensäure angesäuerten, wäßrigen Phase konnte kein **3** isoliert werden.

Versuch 14: N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanin-cyanmethylester (10)

3,9 g **1** wurden mit 1,25 ml Chloracetonitril und 2,2 ml wasserfr. Triäthylamin in 50 ml trockenem Essigester 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt, Nach dem Erkalten wurde vom Triäthylamin-hydrochlorid abfiltriert, das Filtrat mit Wasser, $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und im Vak. bei 40° eingengt. Der ölige Rückstand wurde aus Äther—*P* \bar{A} kristallisiert und nach Kühlen im Eisbad filtriert. Es wurden 3,50 g **10** (67% d. Th.) vom Schmp. 55—56° erhalten. Zur Analyse wurde aus Äther—*P* \bar{A} umkristallisiert, Schmp. 56°.

IR ($CHCl_3$): 2,88 (w), 5,63 (s), 5,81 (s).

$C_{16}H_{20}N_2O_4$. Ber. C 63,14, H 6,62, N 9,21.
Gef. C 63,35, H 6,68, N 9,22.

Versuch 15: 3 aus 10

550 mg **10** wurden in 3 ml absol. *DMF* gelöst und nach Zugabe von 380 mg p-Toluolsulfonamid-natrium 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Aufarbeitung wie in Vers. 3 wurden 450 mg **3** (60% d. Th.) erhalten, die mit authent. **3** in Schmp., Mischschmp. und IR-Spektrum übereinstimmten.

Versuch 16: N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanin-carbäthoxymethylester (11)

1,32 g **1** wurden mit 0,66 ml Bromessigester und 0,84 ml wasserfr. Triäthylamin in 20 ml trockenem Essigester 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Aufarbeitung wie in Vers. 14 wurden 1,33 g **11** (76% d. Th.), Schmp. 83—87°, erhalten. Zur Analyse wurde aus Äther—*P* \bar{A} umkristallisiert, Schmp. 86 bis 88°.

IR ($CHCl_3$): 2,90 (w), 5,71 (s), 5,85 (s).

$C_{18}H_{25}NO_6$. Ber. C 61,33, H 7,17, Gef. C 61,38, H 7,11.

Versuch 17: 3 aus 11

700 mg **11** wurden, in 4 ml absol. *DMF* gelöst, mit 420 mg p-Toluolsulfonamid-natrium 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen und wie in

Vers. 3 aufgearbeitet. Es wurden 380 mg **3** (45% d. Th.) erhalten, die mit authent. **3** in Schmp., Mischschmp. und IR-Spektrum übereinstimmten.

Versuch 18: N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanin-2,4-dinitrophenylester (12)

3,9 g **1** und 2,96 g 2,4-Dinitrophenol wurden in 50 ml trockenem Essigester gelöst, auf 0° gekühlt, eine gekühlte Lösung von 3,1 g *N,N'*-Dicyclohexyl-carbodiimid in 15 ml trockenem Essigester dazugegeben und 3 Stdn. bei 0° stehengelassen. Nach Erwärmen auf Raumtemp. wurde filtriert, der Rückstand (3,1 g *N,N'*-Dicyclohexyl-harnstoff) gut ausgewaschen, die vereinigten Essigesterphasen im Vak. bei 40° eingengt und der Rückstand in wenig trockenem Aceton aufgenommen. Durch vorsichtige, portionsweise Zugabe von *P* \ddot{A} konnte Kristallisation erzielt werden. **12** neigt sehr zu gallertigem Ausfallen. Es wurden 5,6 g **12** (88% d. Th.), Schmp. 104—108° (Zers.), erhalten. Zur Analyse wurde aus Aceton—*P* \ddot{A} umkristallisiert, Schmp. 113 bis 115° (Zers.).

IR (CHCl₃): 2,89 (w), 5,59 (s), 5,82 (s), 6,19 (s), 6,45 (s).

C₂₀H₂₁N₃O₈. Ber. N 9,74. Gef. N 9,60.

Versuch 19:

a) **3 aus 12**: 1,72 g **12** wurden in 10 ml absol. *DMF* gelöst und nach Zugabe von 1,6 g *p*-Toluolsulfonamid-natrium 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Dann wurde auf Eis gegossen, mit 1*n*-Citronensäure unter Eiskühlung auf pH 3 angesäuert, 3mal mit je 50 ml Essigester extrahiert und die vereinigten Essigesterphasen mit Wasser bis zur Gelbfärbung der wäßrigen Phase und anschließend 4mal mit je 50 ml eiskalter, gesätt. Natriumacetat-Lösung gewaschen. Nach Neutralwaschen und Trocknen der Essigesterphase wurde der Eindampfrückstand im Vak. bei 40° mit Äther—*P* \ddot{A} kristallisiert. Es wurden 560 mg **3** (34% d. Th.) erhalten, die mit authent. **3** in Schmp., Mischschmp. und IR-Spektrum übereinstimmten.

b) **4 aus 12**: 1,72 g **12** wurden wie in Vers. 19a mit 1,6 g *p*-Toluolsulfonamid-natrium umgesetzt. Die aus saurer Lösung erhaltenen, vereinigten Essigesterextrakte wurden bis zur Gelbfärbung der wäßrigen Phase gewaschen, getrocknet und der Eindampfrückstand in 10 ml Eisessig gelöst. Nach Zugabe von 300 mg HCl in Eisessig wurde 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen und nach vorsichtiger Zugabe von absol. Äther filtriert. Es wurden 870 mg **4** (65% d. Th.) erhalten, die mit authent. **4** in Schmp., Mischschmp. und IR-Spektrum übereinstimmten. Unter Zugrundelegung der in Vers. 4 beobachteten Ausbeute für die Überführung von **3** in **4** errechnet sich daraus eine Ausb. an **3** von 74% d. Th.

Versuch 20: N-(N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanyl)-N,N'-dicyclohexyl-harnstoff (13) und N-t-Butoxycarbonyl-phenylalanin-phenylester (14)

800 mg **1** und 340 mg Phenol wurden in 20 ml trockenem Essigester gelöst, auf —20° gekühlt und nach Zugabe einer gekühlten Lösung von 620 mg *DCCI* in 5 ml trockenem Essigester 3 Stdn. bei —20° stehengelassen. Dann wurde kalt filtriert, wodurch 340 mg *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff (52% d. Th.) erhalten wurden. Nach Erwärmen auf Raumtemp. wurde nochmals filtriert, wodurch 300 mg **13** (23% d. Th.), Schmp. 182—185°, erhalten wurden.

IR (Nujol): 3,00 (s), 5,81 (s), 5,93 (s), 6,09 (vs).

13 C₂₇H₃₂N₃O₄. Ber. C 68,61, H 8,96, N 8,89.
Gef. C 68,76, H 8,83, N 8,94.

Das Filtrat wurde mit eiskalter 0,1*m*-NaOH neutralgewaschen, getrocknet und im Vak. bei 40° eingeengt. Der Rückstand wurde mit Äther—*PÄ* kristallisiert. Es wurden 570 mg **14** (44% d. Th.), Schmp. 105—110° (Zers.), erhalten. Zur Analyse wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel Benzol: *PÄ* 9 : 1) gereinigt und anschließend aus Äther—*PÄ* umkristallisiert; Schmp. 115—117° (Zers.).

IR (CHCl₃): 2,89 (m), 5,55 (s), 5,82 (s).

14 C₂₀H₂₃N₃O₄. Ber. C 70,37, H 6,79, N 4,11.
Gef. C 70,40, H 6,69, N 4,18.

Versuch 21: **3** aus **14**

450 mg **14** wurden in 3 ml absol. *DMF* mit 520 mg p-Toluolsulfonamid-Na wie in Vers. 3 umgesetzt und aufgearbeitet. Es wurden 200 mg **3** (36% d. Th.) erhalten, die mit authent. **3** in Schmp. und IR-Spektren übereinstimmten.

Versuch 22: **4** aus **1** mit Carbonyl-diimidazol¹⁶

1,32 g **1** wurden unter leichtem Erwärmen in 50 ml absol. *THF* gelöst und nach Zugabe einer Lösung von 10 mMol Carbonyldiimidazol in absol. *THF* 1 Stde. auf 50° erwärmt, wobei Gasentwicklung beobachtet wurde. Dann wurde das Lösungsmittel im Vak. bei 40° abgezogen, der Rückstand in 16 ml absol. *DMF* gelöst und nach Zugabe von 1,95 g p-Toluolsulfonamid-natrium 12 Stdn. bei Raumtemp. stengelassen. Nach Aufarbeitung wie in Vers. 3 wurde der Eindampfrückstand der Essigesterphase in 15 ml Eisessig 12 Stdn. bei Raumtemp. stengelassen. Nach Zugabe von absol. Äther wurde filtriert, wodurch 920 mg **4** (52% d. Th.) erhalten wurden, die mit authent. **4** im Schmp. und IR-Spektrum übereinstimmten. Unter Zugrundelegung der in Vers. 4 festgestellten Ausbeute für die Überführung von **3** in **4** errechnet sich daraus eine Ausb. an **3** von 60% d. Th.

Versuch 23: **6** aus **10**

1,0 g **10** wurden in 10 ml absol. *DMF* gelöst und nach Zugabe von 400 mg Methansulfonamid-natrium wie in Vers. 3 umgesetzt und aufgearbeitet. Es wurden 725 mg **6** (64% d. Th.) erhalten, die mit authent. **6** in Schmp. und IR-Spektrum übereinstimmten.

Versuch 24: **7** aus **12**

2,6 g **12** wurden in 20 ml absol. *DMF* mit 1,35 g Methansulfonamid-natrium wie in Vers. 19b umgesetzt und aufgearbeitet. Es wurden 1,36 g **7** (78% d. Th.) erhalten, die mit authent. **7** in Schmp. und IR-Spektren übereinstimmten. Unter Zugrundelegung der in Vers. 7 festgestellten Ausbeute für die Überführung von **6** in **7** entspricht dies einer Ausb. von 89% d. Th. an **6**.

Versuch 25: **7** aus **1** mit Carbonyl-diimidazol¹⁶

1,32 g **1** wurden wie in Vers. 22 mit Carbonyldiimidazol und anschließend mit 1,13 g Methansulfonamid-natrium umgesetzt und aufgearbeitet. Es wurden 750 mg **7** (54% d. Th.) erhalten, die mit authent. **7** in Schmp. und IR-Spektrum übereinstimmten. Unter Zugrundelegung der in Vers. 7 für die Überführung von **6** in **7** beobachteten Ausb. entspricht dies einer Ausbeute an **6** von 62% d. Th.